

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
15 de Julio de 2004 (15.07.2004)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2004/058219 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: **A61K 9/02,**
38/49

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/CU2003/000020

(22) Fecha de presentación internacional:
22 de Diciembre de 2003 (22.12.2003)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
2002/0336
27 de Diciembre de 2002 (27.12.2002) CU

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo
US): **CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y
BIOTECNOLOGÍA** [CU/CU]; Avenida 31 entre 158 y
190, Cubanacán, Playa, 10600 Ciudad de La Habana (CU).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **MAR-
RERO MIRAGAYA, María, Acella** [CU/CU]; 5ta.
Avenida No. 26007 entre 260 y 262, Playa, 10900 Ciudad
de La Habana (CU). **AGUILERA BARRETO, Ana**
[CU/CU]; Avenida 31 #18207 entre 182 y 184 Apto. 21,
Playa, 11400 Ciudad de La Habana (CU). **GONZÁLEZ
CHÁVEZ, Lisette** [CU/CU]; 54 # 4905 entre 49 y 51,
Playa, 11400 Ciudad de La Habana (CU). **MARTÍNEZ
DÍAZ, Eduardo** [CU/CU]; Calle 186 # 3117 entre 31 y 33
Apto.14 E, Playa, Ciudad Habana 12100, 12100 Ciudad
Habana (CU). **TORREZ CABRERA, Beatriz** [CU/CU];
Calle 38 # 4725 entre 40 y 47 Reparto Kohly, Playa,
11400 Ciudad Habana (CU). **COSME DÍAZ, Carelia**
[CU/CU]; Avenida 31 #18207 entre 182 y 184 Cubanacán,

Playa, 12100 Ciudad de La Habana (CU). **SARMIENTO
MAYEA, Mílesa, Yení** [CU/CU]; Josefina 221 apto # 1
entre Jorge y Avellaneda 10 de Octubre, 10500 Ciudad
Habana (CU). **HERNÁNDEZ MARRERO, Luciano,**
Francisco [CU/CU]; Avenida 5ta D #47608 entre 476
y 478, Guanabo, 19120 Ciudad de La Habana (CU).
TAMARGO SANTOS, Beatriz [CU/CU]; Calle 222
Edificio 104 apto. F4 entre 31 y 33 F4, La-Lisa, 13600
Ciudad Habana (CU).

(74) Mandatario: **POVEDA MARCHECO, Argia;** Avenida
31 entre 158 y 190, Cubanacán, Playa, 10600 Ciudad de
La Habana (CU).

(81) Estados designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (regional): patente ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO,
SE, SI, SK, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección
"Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al
principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) Title: FORMULATIONS FOR THE RECTAL ADMINISTRATION OF THROMBOLYTICALLY-ACTIVE AGENTS

(54) Título: FORMULACIONES PARA ADMINISTRAR POR VÍA RECTAL AGENTES CON ACCIÓN TROMBOLÍTICA

(57) Abstract: The invention relates to pharmaceutical formulations in the form of a suppository containing thrombolytically-active agents which can penetrate the rectal mucosa. The invention is intended for the treatment of acute and/or thrombotic hemorrhoidal disease.

(57) Resumen: Formulaciones farmacéuticas en forma de supositorio que contienen agentes con acción trombolítica capaces de penetrar en la mucosa rectal, para el tratamiento de la enfermedad hemorroidal aguda y/o de origen trombótico.

WO 2004/058219 A1

MEMORIA DESCRIPTIVA

FORMULACIONES QUE CONTIENEN AGENTES DE ACCIÓN TROMBOLÍTICA PARA ADMINISTRAR POR VÍA RECTAL

La presente invención está relacionada con el campo de la biotecnología, con
5 las ciencias médicas y la industria farmacéutica, y en particular con la
obtención de formulaciones para ser administradas por vía mucosal, que
contienen un agente trombolítico de origen peptídico o proteico como principio
activo y excipientes farmacéuticos como inhibidores de proteasas, promotores
de la absorción, estabilizantes, entre otros.

10 Entre los agentes antitrombóticos utilizados en esta invención se encuentran
la estreptoquinasa (SK), y activador tisular del plasminógeno (t-PA), no
descartándose la factibilidad de poder utilizar cualquier otra molécula con
características antitrombóticas similares.

Las hemorroides son una de las patologías de la vía rectal de más alta
15 incidencia en la población a nivel mundial, alrededor de un 4% de prevalencia
en Estados Unidos e Inglaterra (Johanson JF, Sonnenberg A. The prevalence
of hemorrhoids and chronic constipation, and epidemiological study.
Gastroenterology 1990; 98:380). Las hemorroides son dilataciones de las
venas de los plexos venosos de la mucosa del recto o del ano. Si las afectadas
20 son las del plexo superior se llaman hemorroides internas, se sitúan por arriba
del conducto anal y se encuentran cubiertas por mucosa. Las del plexo venoso
inferior se hallan situadas por debajo de la unión ano rectal y están cubiertas
por piel exterior. El sistema de drenaje de ésta zona carece de válvulas, y por
ello la posición erecta del hombre aumenta la presión en el interior de las venas
25 hemorroidales y por lo tanto predispone a la enfermedad hemorroidal. Como
complicación de las hemorroides se puede producir una estrangulación de las
mismas con aparición de un color oscuro, debido a la trombosis subyacente.

Para el tratamiento de esta patología existen múltiples formulaciones de
aplicación local en forma de supositorios o ungüentos rectales, que contienen
30 anestésicos, antiinflamatorios y antipruríticos como el ERCAL, SHERIPROCT,
ULTRAPROCT, XYLOPROCT, PROCTAXID, PROCTOGLYVENOL

(Rosenstein E. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Cuadragésima primera edición 1995, 778,1539,1730,1798,1437,1436). Las formulaciones antes mencionadas centran su principal acción en la disminución de la inflamación y el dolor.

- 5 Actualmente se han evaluado mediante ensayos clínicos el uso de baso dilatadores (Nifedipina tópica y anticoagulantes como la crema de heparina que han demostrado alguna efectividad con eventos adversos en el tratamiento de esta entidad (Perrotti P, Antropoli C, Molino D, De Stefano G, Antropoli M. Conservative treatment of acute thrombosed external hemorrhoids with topical
10 nifedipine, Dis Colon Rectum 2001 44(3):405-409).

Además, existen otros tratamientos que son utilizados en las hemorroides de grado I y II como las inyecciones esclerosantes, fotocoagulación, hemorroidolisis, la criocirugía y LASER. Pero estos también presentan desventajas debido a que necesitan personal especializado, equipamiento y la
15 asistencia obligatoria a centros de atención médica.

En ocasiones existen complicaciones en las hemorroides de grado III y IV debido a que estas se trombosan (enfermedad hemorroidal aguda) y los medicamentos y tratamientos antes mencionados no resuelven esta patología, por lo que hay que eliminar el trombo mediante tratamiento quirúrgico
20 (trombectomía) (Bleday R, Breen E. Clinical Features of hemorrhoids Sabiston Textbook of surgery 16 edition, 2001: 980-986). Esta intervención en fase aguda ocasiona numerosos malestares e inconvenientes con afectación de la calidad de vida del paciente y riesgos de complicaciones post intervención (Goldman: Cecil Textbook of medicine 21st Ed., Chapter 143 – Diseases of the
25 rectum and anus 570-572).

El tratamiento no quirúrgico de la enfermedad hemorroidal aguda sería muy ventajoso ya que evitaría los inconvenientes explicados anteriormente, incluso en los casos dónde fuera necesaria la hemorroidectomía, ya que este tipo de tratamiento permitiría que el paciente llegara a la operación con mayor calidad
30 de vida y menos complicaciones.

Los agentes trombolíticos tienen la capacidad de lisar el trombo y restaurar el flujo venoso a nivel del canal anal, lo cual sería posible con agentes tales como

el activador tisular del plasminógeno (t-PA), la uroquinasa (u-PA) y la estreptoquinasa (SK), debido a su efecto trombolítico y antiinflamatorio. El mecanismo de acción de cada uno de estos agentes es diferente, como por ejemplo en el caso del t-PA se forma un complejo ternario con la fibrina presente en el coágulo y el plasminógeno, lo que provoca la activación del plasminógeno transformándolo en plasmina, enzima responsable de la lisis de los coágulos sanguíneos. (Zamarron C, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by natural and recombinant tissue-type plasminogen activator, J Biol Chem, 1984; 259: 2080-2083), en el caso de la u-PA es una enzima proteolítica que actúa directamente sobre el plasminógeno la cual degrada a la fibrina lográndose así el efecto trombolítico (Schneider P, Bachmann F, Sauser D. Urokinase: a short review of its properties and of its metabolism. In: D'Angelo A, de. Urokinase: basic and clinical aspects. London: Academic Press, 1982; 1-15). En general el t-PA y la u-PA se han utilizados como fibrinolíticos en enfermedades de origen trombotico como el embolismo pulmonar, la trombosis venosa profunda, entre otras administrados por vía parenteral. (Ouriel K, Veith FJ. Acute lower limb ischemia: determinants of outcome, Surgery 1998; 124:336-342 109); (Manteiga R, Souto C, Altés A, et al. Short-course thrombolysis as the first line of therapy for cardiac valve thrombosis, J Thorac Cardiovasc Surg 1998; 115:780-784). El efecto farmacológico de la estreptoquinasa recombinante (SKr), al igual que la SK natural, es la activación de la fibrinólisis por su vía exógena, donde el paso final en la cascada fibrinolítica es la conversión de plasminógeno a plasmina aumentando el producto de degradación del fibrinógeno (Chesebro J H, Knatterud G, Roberts R, et al. Thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) Trial, Phase I. A comparison between intravenous tissue plasminogen activator and intravenous Streptokinase. Clinical Findings through hospital discharge. Circulation 1987; 76: 142-154).

El efecto antiinflamatorio se debe a que cuando se transforma enzimáticamente el plasminógeno en plasmina esta digiere el fibrinógeno, la fibrina o ambos, presentes en las zonas inflamadas o en los coágulos favoreciendo su drenaje y a la vez disminuye el edema y la inflamación (Rosenstein E. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Cuadragésima primera edición 1995, 778,1539,1730,1798,1437,1436). Por lo que una combinación en una

formulación de más de un agente trombolítico o las combinaciones de estos con agentes antiinflamatorios pudiera obtenerse una eficacia mayor en enfermedades de origen trombótico como la enfermedad hemorroidal aguda.

La estreptoquinasa es una proteína de alto peso molecular que se emplea actualmente para el tratamiento del infarto agudo del miocardio, trombosis venosa profunda, trombosis de acceso vascular permanente y otras enfermedades de origen trombótico. En este sentido se presenta en diferentes formas farmacéuticas tales como pastillas liofilizadas para el uso parenteral. También se ha administrado por vía mucosal, por ejemplo, la VARIDASA, indicada para el alivio del edema de los procesos inflamatorios o administrada oralmente en forma de tabletas. Además, se ha reportado su administración por vía rectal con el objetivo de que la misma actúe a nivel sistémico para el tratamiento de la reabsorción de hematomas o simplemente para comparar su concentración en plasma al ser administradas por la vía rectal y la oral (Oliven A, Gidron E. Orally and rectally administered Streptokinase. Investigation of its absorption and activity, Pharmacology 1981; 22(2): 135-138); (de Boer AG, Moolenaar F, de Leede LG, Breimer DD. Rectal drug administration: Clinical pharmacokinetic considerations, Clin Pharmacokinet 1982; 7(4): 285-311).

El uso de las formulaciones rectales descrita en esta invención, las cuales contienen agentes trombolíticos para el tratamiento de la enfermedad hemorroidal aguda, es muy conveniente en la medida en que se trata la patología de forma local, de manera no invasiva, no dolorosa y sin complicaciones para el paciente, debido a su capacidad de eliminar el trombo y la inflamación en la zona afectada.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION:

El objeto de esta invención es la obtención de formulaciones farmacéuticas y la aplicación de estas en forma de supositorios, las cuales contienen agentes trombolíticos como principio activo, en una base adecuada para el tratamiento de la enfermedad hemorroidal de origen trombótico, teniendo en cuenta su acción trombolítica y antiinflamatoria.

En esta invención se describe la obtención de una forma farmacéutica sólida elaborada para ser insertada en la mucosa rectal destinada a ejercer una acción local. Los supositorios de la presente invención se preparan mezclando una base oleaginosa, con los aditivos como preservos, inhibidores de proteasas y la presencia o ausencia de promotores de la absorción, manteniendo una agitación constante, para que la mezcla se enfríe gradualmente hasta una temperatura de entre 30 y 40 °C, que permita la incorporación del agente trombolítico, dispersándolo uniformemente mediante agitación. La mezcla resultante se vierte en los moldes fríos de supositorios donde el llenado se realiza en exceso, se deja enfriar hasta solidificación y se raspa el exceso antes de la eyección de los supositorios, almacenándolos a una temperatura entre 2 y 8 °C.

Las formulaciones en forma de supositorios descritas en esta invención tienen como ventaja una acción trombolítica y antiinflamatoria solo con efecto local, sin provocar ninguno de estos efectos a nivel sistémico.

Los agentes trombolíticos empleados pueden ser la SKr (Estrada M P, Hernandez I, et al. High level expression of streptokinase in Escherichia coli. Biotechnology 1992; 10: 1138-1142). en una concentración entre 50000 y 1500000 UI/g y el t-PA (Harris TJR. Second - generation plasminogen activators, Protein Engineering 1987; 1(6): 449-458), en una concentración entre 500000 y 5000000 UI/g, entre otros.

En esta invención se emplean aditivos tales como inhibidores de proteasas y promotores de la absorción (Aryn P, Sayani and Yie, Chien.W. Systemic Delivery of Peptides and Proteins Across Absorptive Mucosae. Critical ReviewsTM in Therapeutic Drug Carrier Systems 1996;13(1 & 2): 85-184); (Lee W A, Ennis R D, Longenecker J P, and Bengtsson P. The bioavailability of intranasal calcitonin in healthy volunteers with and without a permeation enhancer. Pharm. Res 1994; 11: 747); (Loughuth P, Meric H P, Amidon O L. Oral absorption of peptides: The effect of absorption site and enzyme inhibition on the systemic availability of metkephamide. Pharm Res 1994; 11:528-535); (Nakanishi K, Masukawa T, Masada M, Nadai T. Improvement of the rectal bioavailability of latamoxef sodium by adjuvants following administration of a

suppository. Biol Pharm Bull 1994; 17(11): 1496-500). En particular se emplearon promotores tales como agentes quelantes (0.05%-10%), agentes surfactantes(0.03%-8%), sales de sodio (0.01%-10%), y el diclofenaco sódico(0.1-10%), con resultados satisfactorios.

- 5 Además se seleccionaron inhibidores de proteasas sobre la base de la capacidad que tenga de inhibir las enzimas responsables de la degradación del péptido en la zona de administración. Algunos inhibidores protegen péptidos específicos, otros estabilizan una amplia gama de éstos. Sin embargo es necesario tener en cuenta que el inhibidor no afecte la integridad de la
- 10 membrana, siendo éste uno de los problemas que tienen este tipo de sustancias (Nishihata T, Howard J. Absorption-promoting adjuvants: enhancing action on rectal absorption. Advanced Drug Delivery Reviews 1997; 28: 205-228). En esta invención se emplearon los agentes quelantes en concentraciones entre 0.02%-5% con buenos resultados (Sayani A P, Kim D
- 15 D, Frenkl T L, Chun I K, Wang Y J, and Chien Y W. Transmucosal delivery of enkephalins: Comparative enhancing effects of dehydrofusidates and bile salts, Sci. Tech. Pharm. Sci. (STP Pharma) 1994; 4: 470); (Chun I K and Chien Y w. Stabilization of meghionine enkephalins in various rabbit mucosal extracts by enzyme inhibitors, Inst.J.Pharm, 1995; 121: 217); (Yamamoto.A, Muranishi S.
- 20 Rectal drug delivery systems. Improvement of rectal peptide absorption by absorption enhancers, protease inhibitors and chemical modification. Advanced Drug Delivery Reviews 1997; 28: 275-299).

Además, se emplean bases sintéticas obtenidos por vía química como la Novata y el Witepsol. Este tipo de bases presentan bajo punto de fusión por lo

25 que funden en el recto liberando el fármaco para su posterior efecto terapéutico. (Faulí I Trillo C. Tratado de Farmacia Galénica 2000, Editorial Luzón 5, S.A de Ediciones Madrid; 77 – 103, 739 – 774).

En la fase acuosa de la formulación se emplean agentes preservantes como el metil y propil parabenos (0.01-5%).

- 30 Los supositorios descritos en esta invención son capaces de ejercer su acción trombolítica y antiinflamatoria local en la mucosa rectal.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS:

- Figura 1. Resultados del índice de irritación rectal por grupo
- Figura 2. Desarrollo experimental de enfermedad hemorroidal aguda en conejo:
0, 10 y 24 h
- 5 Figura 3. Biomodelo de enfermedad hemorroidal aguda en conejo. Histología
- Figura 4. Eficacia trombolítica de diferentes formulaciones en conejos con
enfermedad hemorroidal aguda.
- Figura 5. Trombo antes y después de aplicar la formulación. Histología
- Figura 6. Paciente tratado con supositorio que contiene tPA.
- 10 Figura 7. Paciente tratado con supositorio contiene SKr.

EJEMPLOS DE REALIZACIÓN

- EJEMPLO 1:** *Formulación de supositorios que contiene SKr y tPA como principio*
15 *activo.*

Formulación A: Se funde la Novata o la Wetepsol en baño de María a 55°C. Se le añade metil y propil parabeno (0.01 - 0.5%), de forma continua, con agitación constante hasta lograr una dispersión homogénea y se deja enfriar hasta una temperatura entre 36 – 40 °C, posteriormente se le incorpora la SKr
20 (50 000 – 1.500.000 UI/g) con agitación constante. La mezcla se vierte en moldes fríos de supositorio de 2-3 g. Se deja solidificar y se raspa el exceso hasta posterior eyección.

Formulación A1: Se funde la Novata o la Wetepsol en baño de María a 55°C. Se le añade metil y propil parabeno (0.01 - 0.5%), de forma continua, con
25 agitación constante hasta lograr una dispersión homogénea y se deja enfriar hasta una temperatura entre 36 – 40 °C, posteriormente se le incorpora el t-PA (500000-50000000 UI/g) con agitación constante. La mezcla se vierte en moldes fríos de supositorio de 2-3 g. Se deja solidificar y se raspa el exceso hasta posterior eyección.

30 **Formulación B:** Se elabora según procedimiento descrito en A, pero se le añade además EDTA (0.05 - 10%).

Formulación B1: Se elabora según procedimiento descrito en A1, pero se le añade además EDTA (0.05 - 10%).

Formulación C: Se elabora según procedimiento descrito en B pero se le añade además diclofenaco de sodio (0.1 - 10%).

- 5 **Formulación C1:** Se elabora según procedimiento descrito en B1, pero se le añade además diclofenaco de sodio (0.1 - 10%).

Formulación D: Se elabora según procedimiento descrito en B, pero se le añade además salicilato de sodio (0.01 - 10%).

- 10 **Formulación D1:** Se elabora según procedimiento descrito en B1, pero se le añade además salicilato de sodio (0.01 - 10%).

Formulación E: Se elabora según procedimiento descrito en B, pero se le adiciona además tween 20 (0.03%-8%).

Formulación E1: Se elabora según procedimiento descrito en B, pero se le adiciona además tween 20 (0.03%-8%).

15 **EJEMPLO 2: Evaluación de la irritabilidad rectal de las formulaciones.**

El procedimiento para determinar irritabilidad rectal se realiza según método descrito (PNT/TEC/0210/ Irritabilidad rectal/ G.García; 1995)

- 20 Se emplean en el estudio Conejos albinos F1, NZ & SGB, hembras, de una misma línea, sanos, con peso promedio de 2.35 kg. Los animales se distribuyen aleatoriamente en seis grupos de tres cada uno. Los conejos permanecen en cuarentena durante 5 días y su alimentación y consumo de agua es ad Libitum. Las formulaciones en cada caso se aplican cada 24 h, durante 5 días consecutivos.

Los animales se distribuyen de la siguiente forma:

GRUPO I No tratados, grupo control

GRUPO del II -VI Tratados con las formulaciones A, B, C, D, E
respectivamente del ejemplo 1.

Posteriormente se realiza la evaluación histopatológica, macroscópica y microscópica de la mucosa rectal de los conejos y se calcula el índice de irritabilidad rectal.

5 Durante y después de terminado el ensayo, no se observó evidencia alguna de alteraciones macroscópicas en la mucosa rectal, además no se mostró síntomas ni signos que los sugieran, como edema, eritema y secreciones.

Posteriormente se realizó la evaluación microscópica de la reacción del tejido rectal para cada una de las formulaciones. Se analizaron parámetros como infiltración leucocitaria, congestión vascular y edema, calculando los índices de
10 irritación rectal.

Los resultados se muestran en la figura 1.

Este estudio demostró que los supositorios elaborados no resultaron irritantes de la mucosa rectal pues, como se muestra en la figura No.1 el índice de irritabilidad se encuentre en el intervalo de 0 a 0.4 en todos los casos, valor que
15 está por debajo del índice de irritabilidad mínima.

Al evaluar las formulaciones que contenían tPA como principio activo se obtuvo un resultado similar.

EJEMPLO 3: *Biomodelo de trombosis Hemorroidal.*

El Biomodelo fue preparado por medio de la aplicación de aceite de crotton en
20 la porción ano-recto de conejos F1 (N2 & SGB), hembras con un peso promedio de 2 a 2,5 Kg. El algodón embebido con la solución inductora (la cual consistió en agua, piridina, dietil éter y aceite de crotton al 6 %) fue insertado en el ano.

Las siguientes condiciones fueron las óptimas para realizar el modelo: el
25 aplicador embebido en 800 ul de solución inductora fue aplicado en el ano de conejos hembras de 12 - 15 semanas de edad por 60 seg. El edema fue desarrollado linealmente hasta 10 h después de la aplicación y la severidad del edema fue sostenida casi constantemente hasta las 30 h. Las observaciones macroscópicas desde 4 h hasta las 30 h post administración revelaron
30 homogénea y consistente inflamación en la porción ano-recto aplicada. Observaciones histológicas mostraron apariencia de edema, infiltración de

fibrina, vasodilatación, células inflamatorias congestión de sangre y necrosis de la mucosa. Este modelo fue útil para la evaluación del efecto trombolítico de los productos ensayados así como la actividad anti-inflamatoria de las diferentes formulaciones.

- 5 Tabla 1 Observaciones clínicas del ano después de 60 segundos de exposición con la solución inductora. Ver figuras 2 y 3.

T. DE OBSERVACIÓN (H)	EXPOSICIÓN 60"
4	Edema bien definido, enrojecimiento
10	Congestión, edema, formación de vesículas
24	Vesículas bien definidas, eritemas enrojecidos
30	Inflamación severa, secreción mucopurulenta, vesículas, presencia de algunas úlceras.
48	inflamación moderada, algunas vesículas y úlceras necrosadas.

EJEMPLO 4: Evaluación del efecto trombolítico y antiinflamatorio de las formulaciones A, A'; B, B'; C, C; D, D'; E, E'.

- 10 Este ensayo se realizó según procedimiento descrito en el ejemplo 3; los conejos fueron distribuidos aleatoriamente en 5 grupos de 8 animales cada uno. Previo a la aplicación de los supositorios siempre se seleccionó un grupo control de 3 animales para demostrar la presencia de trombo por examen histológico. Una vez administrada las diferentes formulaciones se tomaron
- 15 muestras de sangre (suero/plasma) desde 0 hasta 24 h, para medir diferentes marcadores de reacción inflamatoria, y parámetros hemostáticos como: Proteína C Reactiva, infiltración neutrófilos, Producto Degradación de la Fibrina (PDF), niveles de fibrinógeno y tiempo de protombina. Además se realizaron las observaciones clínicas, y la evaluación histológica de la mucosa rectal.
- 20 Según los resultados que se muestran en la figura 4, podemos plantear que todas las formulaciones fueron capaces de realizar la lisis del trombo, con mejores resultados para aquellas formulaciones que contenían salicilato de

sodio y EDTA (D, D1); obteniendo resultados mayores de un 66% tanto para la formulación de SK como para la que contiene tPA..

Como era de esperar el placebo no actuó sobre el trombo, ni se observó evidencia alguna de alteraciones macroscópicas a nivel de la mucosa. Se utilizó otro grupo control de 4 conejos a los que se le provocó la trombosis hemorroidal pero no se le administró ninguna formulación, con el objetivo de conocer si existía alguna reacción cruzada con el mecanismo fisiológico de eliminación del trombo; se comprobó que el efecto encontrado fue propio de cada formulación.

10 **EJEMPLO 5: Estudio clínico realizado a pacientes con enfermedad hemorroidal aguda trombosada.**

La sintomatología de los pacientes portadores de una hemorroides trombosadas son molestas y muy dolorosas. Si es el primer episodio, el tratamiento médico puede solucionar el problema en corto tiempo. Cuando los episodios se repiten es necesario realizar un tratamiento quirúrgico mínimo (trombectomía) con la consecuente afectación de la calidad de vida del paciente.

Un ensayo clínico fase II fue desarrollado con el objetivo de evaluar el efecto de una nueva formulación de un supositorio como método para tratar la enfermedad hemorroidal en fase aguda.

En el estudio clínico se incluyeron 24 pacientes (divididos en 3 grupos de 8 cada uno) con diagnóstico de enfermedad hemorroidal aguda trombosada que permanecieron ingresados 4 días como estadía promedio.

Grupo I	Tratados con un supositorio de SKr + tratamiento habitual.
Grupo II	Tratados con un supositorio de tPA + tratamiento habitual.
Grupo III	Grupo control utilizando tratamiento habitual que consiste en: Reposo en posición de Trendelenburg, Abundantes líquidos Baños de asientos tibios Uso del cojín de kelly Alivio del dolor Uso de laxantes orales

25 Los criterios de inclusión y exclusión fueron los siguientes:

Inclusión

Edades entre 18 y 50 años

Consentimiento informado firmado por escrito

Dolor de más de 48 horas de comienzo de los síntomas

- 5 Protusión del paquete hemorroidal mantenido por mas de 48 horas

Exclusión

Pacientes que refieran contraindicación al uso de los trombolíticos.

- 10 En los cuadernos de recogida de datos de los pacientes se recogieron los datos personales las características demográficas y de base de la enfermedad y la evaluación de la eficacia y los eventos adversos de los tratamientos en estudio. Los resultados se compararon usando test de chi cuadrado y test de Fischer. Se crearon tablas con los resultados encontrados.

Tabla 2. Parámetros evaluados para cada tratamiento

PARÁMETROS EVALUADOS	SUPOSITORIO DE SKr (N=8)		SUPOSITORIO DE t-PA (N=8)		TRATAMIENTO HABITUAL (N=8)	
	N	%	N	%	N	%
Clínicos						
Desaparición del dolor	7/8	87.5	6/8	75	4/8	50
Desaparición del edema	7/8	87.5	5/8	62.5	6/8	75
Desaparición del prurito	7/8	87.5	7/8	87.5	5/8	62.5
Regresión del trombo *	6/8	75	4/8	50	3/8	37.5
Necesidad de Cirugía						
trombectomía	2	25	4	50	5	62.5
Duración del tratamiento (días) *	4		6		10	
Suspensión del tratamiento en estudio	1	12.5	3	37.5	-	-

15 * $p > 0.001$

- 20 Al analizar los parámetros evaluados observamos que desde el punto de vista clínico el dolor, edema y regresión del trombo adquieren un valor importante y de hecho el porcentaje de mayor de curación es alcanzado en la formulación de SKr aunque no sea estadísticamente significativa por el escaso número de pacientes evaluados. En cuanto a la necesidad de tratamiento quirúrgico mínimo parámetro que mide variable principal de respuesta si observamos significación estadística (tabla I). De igual forma se comportó la duración del

tratamiento que favoreció a la formulación de SKr y de tPA, aunque fue en menos tiempo la de SKr.

Tabla 3. Respuesta al tratamiento seleccionado

RESPUESTA AL TRATAMIENTO	SUPOSITORIO DE SKR		SUPOSITORIO DE TPA		TRATAMIENTO HABITUAL	
Total	6	(75%)	4	(50%)	3	(37.5%)
Parcial	1	(12.5%)	2	(25%)	1	(12.5%)
No respuesta	1	(12.5%)	2	(25%)	4	(50%)

5

De los 24 pacientes tratados 13 tuvieron respuesta total al tratamiento utilizado (54.1%). La eficacia en la respuesta favoreció significativamente a la formulación con SKr (75%) (Tabla III) comparada con los pacientes tratados con tPA y el tratamiento habitual (Figura 6 y 7).

- 10 Los resultados de este estudio demuestran que el uso del supositorio por vía rectal para la enfermedad hemorroidal aguda trombosada mejora significativamente la "curación" y resolución del cuadro inflamatorio.

VENTAJAS DE LA SOLUCIÓN PROPUESTA

- 15 Con las formulaciones de la presente invención se logra la eliminación del trombo con la consiguiente disminución de la inflamación y el dolor en la zona afectada, sin efectos trombolíticos sistémicos. Además, permite solucionar la patología localmente, de manera no invasiva y no dolorosa, no requiere de personal ni equipamiento especializado para su aplicación, y se hace posible el
- 20 tratamiento de la enfermedad hemorroidal aguda de forma no quirúrgica, por lo que evita los inconvenientes propios de estos tratamientos.

25

REIVINDICACIONES**FORMULACIONES QUE CONTIENEN AGENTES DE ACCIÓN
TROMBOLÍTICA PARA ADMINISTRAR POR VÍA RECTAL**

- 5 1. Una formulación en forma de supositorio para la administración rectal caracterizada porque contiene:
 - Péptidos y proteínas con acción trombolítica farmacológicamente activos.
 - Una base oleaginosa.
 - Aditivos tales como: promotores de la absorción, inhibidores de proteasas y
- 10 preservos.
2. Una formulación según reivindicación 1 caracterizada por contener una o varias proteínas con acción trombolítica y/o antiinflamatorias, tales como estreptoquinasa, uroquinasa y/o activador tisular del plasminógeno.
3. Una formulación según reivindicación 1 caracterizada por contener
- 15 estreptoquinasa recombinante a una concentración de 50 000 – 1.500.000 UI/g.
4. Una formulación según reivindicación 1 caracterizada por contener estreptoquinasa natural a una concentración de 50 000 – 1.500.000 UI/g.
5. Una formulación según reivindicación 1 caracterizada por contener
- 20 uroquinasa a una concentración de 50 000 - 1.000.000 UI/g
6. Una formulación según reivindicación 1 caracterizada por contener activador tisular del plasminógeno a una concentración de 500000-50000000 UI/g.
7. Una formulación según reivindicaciones 1 - 6, caracterizada porque
- 25 contiene promotores de la absorción mucosal tales como, diclofenaco de sodio, y/o salicilato de sodio.
8. Una formulación según reivindicaciones 1 - 6 caracterizada porque contiene un inhibidor de proteasas.

9. Una formulación según reivindicación 8 caracterizada porque el inhibidor de proteasas es el EDTA.
10. Una formulación según reivindicaciones 1 – 7, 8 y 9, caracterizada porque la base oleaginosa es el Witepsol H15.
- 5 11. Una formulación según reivindicaciones 1 – 10, caracterizada porque el peso promedio del supositorio es de 1 – 3 g.
12. Una formulación según reivindicaciones 1 – 11 caracterizada porque ser eficaz, sin efectos sistémicos, en el tratamiento de la enfermedad hemorroidal.
- 10 13. Un método para el tratamiento de la hemorroide caracterizado por el uso de péptidos y proteínas con acción trombolítica vía rectal en forma de supositorio.
14. Un método de acuerdo a la reivindicación 13 caracterizado porque la proteína con acción trombolítica es la estreptoquinasa o péptidos derivados
- 15 de ella.
15. Un método de acuerdo a la reivindicación 13 caracterizado porque la proteína con acción trombolítica es la uroquinasa o péptidos derivados de ella.
16. Un método de acuerdo a la reivindicación 13 caracterizado porque la
- 20 proteína con acción trombolítica es el activador tisular del plasminógeno o péptidos derivados de él.
17. El uso de péptidos y proteínas con acción trombolítica para el tratamiento de la hemorroide caracterizado por su empleo por vía rectal y en forma de supositorio.
- 25 18. El uso de acuerdo a la reivindicación 17 donde la proteína con acción trombolítica es la estreptoquinasa o péptidos derivados de ella para el tratamiento de la hemorroide caracterizado por su empleo por vía rectal y en forma de supositorio.

19. El uso de acuerdo a la reivindicación 17 donde la proteína con acción trombolítica es la uroquinasa o péptidos derivados de ella para el tratamiento de la hemorroide caracterizado por su empleo por vía rectal y en forma de supositorio.
- 5 20. El uso de acuerdo a la reivindicación 17 donde la proteína con acción trombolítica es el activador tisular del plasminógeno o péptidos derivados de él para el tratamiento de la hemorroide caracterizado por su empleo por vía rectal y en forma de supositorio.

Figura. 1

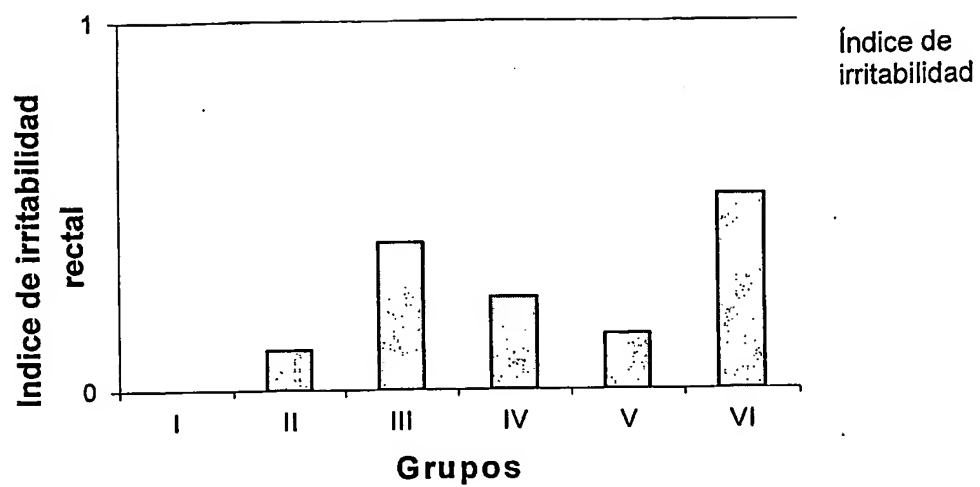


Figura. 2



Figura. 3

5

10

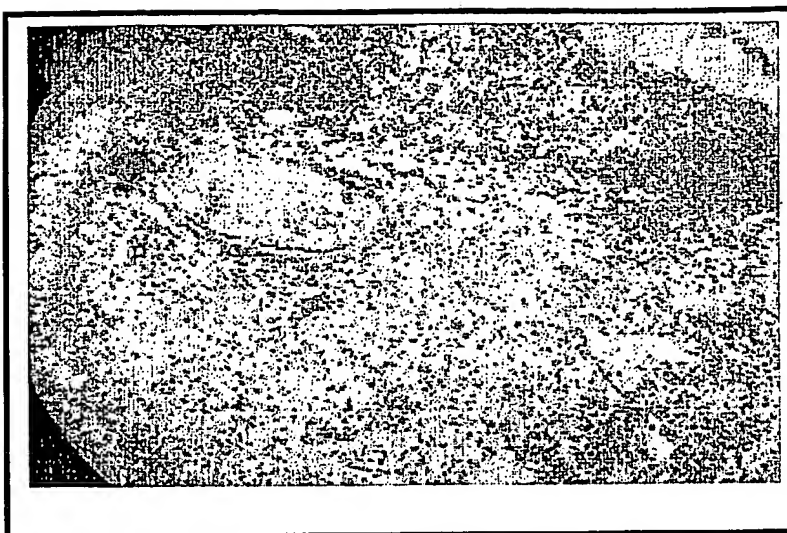


Figura. 4

15

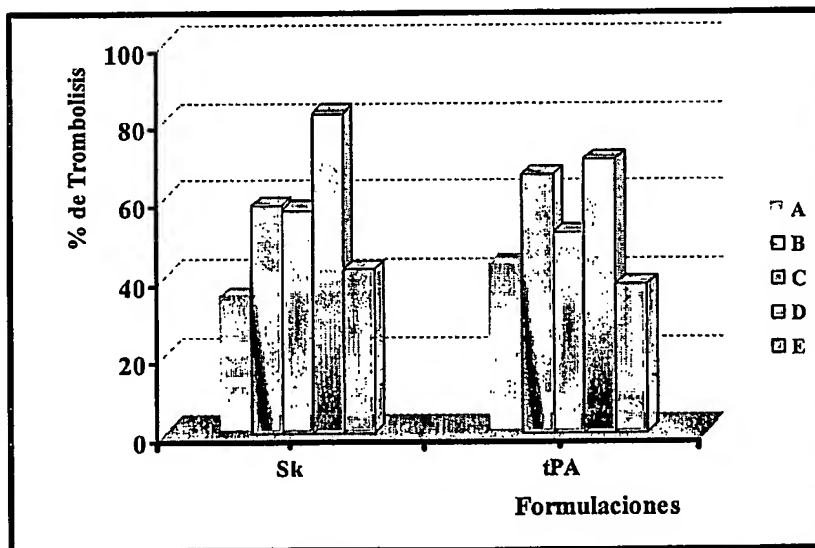
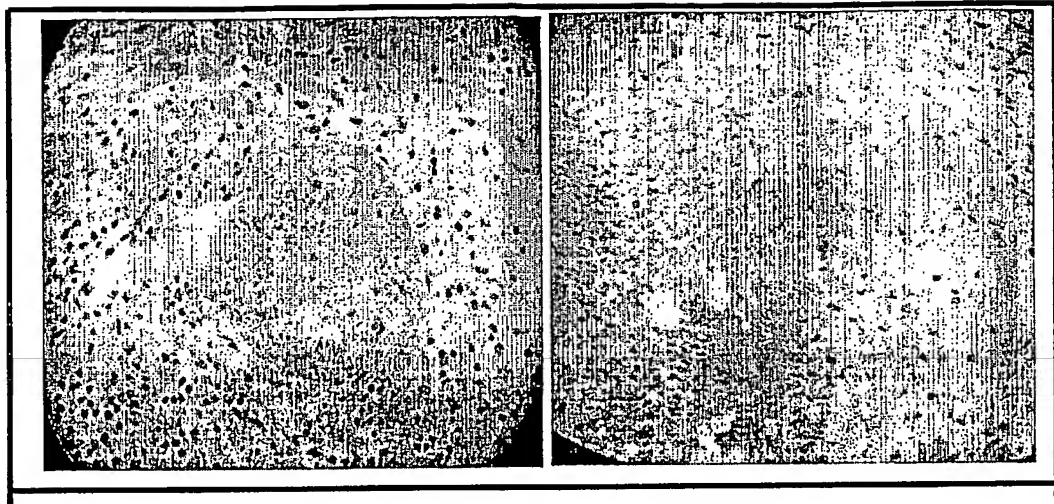


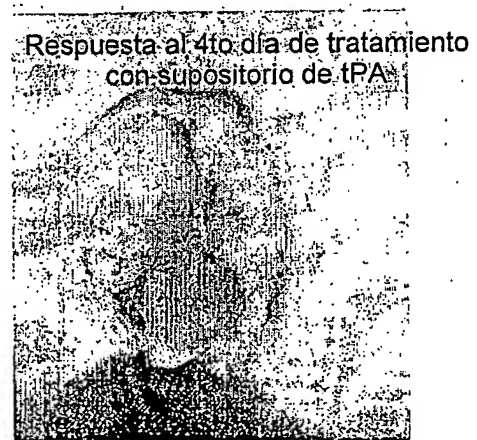
Figura. 5



5 Figura.6



Paquete hemorroidal
externo trombosado

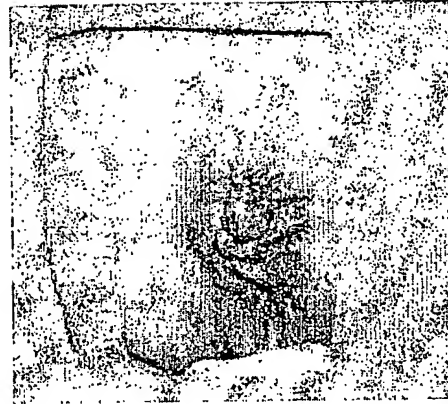


Respuesta al 4to día de tratamiento
con supositorio de tPA

Figura.7



Paquete hemorroidal
externo trombosado



Respuesta al 4to día de tratamiento
con supositorio de SKr